

24.06.99

JP 99/03360

日本特許庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

5

REC'D	13 AUG 1999
WIPO	PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 1998年 6月25日

出願番号
Application Number: 平成10年特許願第178449号

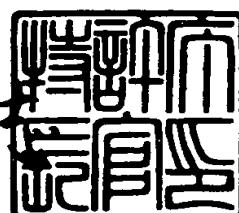
出願人
Applicant(s): 伊東 恭悟
住友製薬株式会社

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

1999年 7月15日

特許長官
Commissioner,
Patent Office

伴佐山 建志



出証番号 出証特平11-3050091

【書類名】 特許願
【整理番号】 132486
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 C12N 15/12
C07K 7/00
【発明の名称】 サイクロフィリンB由来の腫瘍抗原ペプチド
【請求項の数】 12
【発明者】
【住所又は居所】 佐賀県三養基郡基山町けやき台2-25-9
【氏名】 伊東 恭悟
【発明者】
【住所又は居所】 福岡県久留米市長門石2-11-22-401
【氏名】 五味 健也
【特許出願人】
【識別番号】 596094371
【住所又は居所】 佐賀県三養基郡基山町けやき台2-25-9
【氏名又は名称】 伊東 恭悟
【特許出願人】
【識別番号】 000183370
【氏名又は名称】 住友製薬株式会社
【代表者】 横塚 實亮
【代理人】
【識別番号】 100107629
【弁理士】
【氏名又は名称】 中村 敏夫
【電話番号】 06-466-5214
【手数料の表示】
【予納台帳番号】 056546
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9710701

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 サイクロフィリンB由来の腫瘍抗原ペプチド

【特許請求の範囲】

【請求項1】 サイクロフィリンB由来の部分ペプチドであって、かつHLA抗原と結合して細胞障害性T細胞により認識され得る腫瘍抗原ペプチド、あるいは機能的に同等の特性を有するその誘導体。

【請求項2】 HLA抗原がHLA-A24あるいはHLA-A2である請求項1記載の腫瘍抗原ペプチド、あるいは機能的に同等の特性を有するその誘導体。

【請求項3】 配列番号：1または配列番号：2に記載のアミノ酸配列の全部もしくは一部を含む請求項1または2記載の腫瘍抗原ペプチド、あるいは機能的に同等の特性を有するその誘導体。

【請求項4】 配列番号：1または配列番号：2に記載のアミノ酸配列の第2位及び／又は第9位が他のアミノ酸残基に置換されたアミノ酸配列の全部もしくは一部を含む、請求項3記載の腫瘍抗原ペプチド誘導体。

【請求項5】 以下のアミノ酸配列の全部もしくは一部を含む、請求項4記載の腫瘍抗原ペプチド誘導体。

Lys-X-His-Arg-Val-Ile-Lys-Asp-Y;

(ここでXはフェニルアラニン、チロシン、メチオニンあるいはトリプトファンであり、Yはフェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、トリプトファンあるいはメチオニンである)。

【請求項6】 以下のアミノ酸配列の全部もしくは一部を含む、請求項4記載の腫瘍抗原ペプチド誘導体。

Asp-X-Met-Ile-Gln-Gly-Gly-Asp-Y;

(ここでXはフェニルアラニン、チロシン、メチオニンあるいはトリプトファンであり、Yはフェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、トリプトファンあるいはメチオニンである)。

【請求項7】 請求項1～6いずれか記載の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体を有効成分として含有する、腫瘍の治療または予防剤。

【請求項8】 サイクロフィリンB、あるいは該サイクロフィリンBをコードする遺伝子を有効成分として含有する、腫瘍の治療または予防剤。

【請求項9】 請求項1～6いずれか記載の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体に特異的に結合する抗体。

【請求項10】 腫瘍患者から単離された抗原提示細胞の表面に、HLA抗原と請求項1～6いずれか記載の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体との複合体を提示させた後、この抗原提示細胞を患者の体内に戻すことを特徴とする、前記腫瘍患者に対する治療剤。

【請求項11】 HLA抗原と請求項1～6いずれか記載の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体との複合体を特異的に認識する、細胞障害性T細胞。

【請求項12】 請求項11記載の細胞障害性T細胞からなる腫瘍の治療剤

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、新規な腫瘍抗原ペプチドに関する。さらに詳しくは、サイクロフィリンB由来の腫瘍抗原ペプチドおよび機能的に同等の特性を有するその誘導体、あるいはこれらの腫瘍抗原ペプチドおよびその誘導体を *in vivo* または *in vitro* で利用した腫瘍の治療または予防剤などに関する。

【0002】

【従来の技術】

生体による腫瘍の排除には、免疫系、特にT細胞が重要な役割を果たしていることが知られている。実際、ヒトの腫瘍局所には腫瘍細胞に対して傷害活性を示すリンパ球の浸潤が認められ (Arch.Surg., 126:200, 1990)、メラノーマからは自己の腫瘍細胞を認識する細胞傷害性T細胞 (CTL) が比較的容易に分離されている (Immunol.Today, 8:385, 1987, J.Immunol., 138:989, 1987, Int.J.Cancer, 52:52, 1992等)。また、該CTLの移入によるメラノーマ治療の臨床結果からも、腫瘍排除におけるT細胞の重要性が示唆されている (J.Natl.Cancer.Inst., 86:1159, 1994)。

自己の腫瘍細胞を攻撃するCTLが標的とする分子については長い間不明であったが、最近の免疫学および分子生物学の進歩により次第に明らかになってきた。すなわちCTLは、T細胞受容体（TCR）を用いて、腫瘍抗原ペプチドと呼ばれるペプチドと主要組織適合遺伝子複合体クラスI抗原（MHCクラスI抗原、ヒトの場合はHLA抗原と呼ばれる）との複合体を認識することにより、自己の腫瘍細胞を攻撃していることが明らかとなった。

【0003】

腫瘍抗原ペプチドは、腫瘍に特有のタンパク質、すなわち腫瘍抗原タンパク質が細胞内で合成された後、プロテアソームにより細胞内で分解されることによって生成される。生成された腫瘍抗原ペプチドは、小胞体内でMHCクラスI抗原（HLA抗原）と結合して複合体を形成し、細胞表面に運ばれて抗原提示される。この抗原提示された複合体を腫瘍特異的なCTLが認識し、細胞障害作用やリンフォカインの産生を介して抗腫瘍効果を示す。このような一連の作用の解明に伴い、腫瘍抗原タンパク質あるいは腫瘍抗原ペプチドをいわゆる癌ワクチンとして利用することにより、腫瘍患者の体内的腫瘍特異的CTLを増強させる治療法が可能となった。

【0004】

腫瘍抗原タンパク質としては、1991年にT.Boonらが初めてMAGEと名付けたタンパク質をヒトメラノーマ細胞から同定した（Science, 254:1643, 1991）。その後、いくつかの腫瘍抗原タンパク質が、主にメラノーマ細胞から同定されている。メラノーマ抗原としては、メラノサイト組織特異的タンパク質であるgp100（J.Exp.Med., 179:1005, 1994）、MART-1（Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 91:3515, 1994）、tyrosinase（J.Exp.Med., 178:489, 1993）などのメラノソームタンパク質、メラノーマだけでなく各種癌細胞と正常精巣細胞に発現するMAGE関連タンパク質群（J.Exp.Med., 179:921, 1994）、腫瘍特異的なアミノ酸変異を持つ β -catenin（J.Exp.Med., 183:1185, 1996）、CDK4（Science, 269:1281, 1995）などが同定されている。また、メラノーマ以外の腫瘍抗原タンパク質としては、HER2-neu（J.Exp.Med., 181:2109, 1995）、p53（Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 93:14704, 1996）などの癌遺伝子産物、CEA（J.Natl.Cancer.Inst., 87:982, 1995）

5)、PSA (J.Natl.Cancer.Inst., 89:293, 1997) などの腫瘍マーカー、HPV (J.Immunol., 154:5934, 1995)、EBV (Int.Immunol., 7:653, 1995) などのウイルスタンパク質などが同定されている。これらについては、総説 (Immunol.Today, 18:267, 1997, J.Exp.Med., 183:725, 1996, Curr.Opin.Immunol., 8:628, 1996等) の記述に詳しい。

【0005】

腫瘍抗原タンパク質や腫瘍抗原ペプチドを腫瘍の治療や診断に応用するためには、メラノーマに比べて発生頻度が圧倒的に高い胃癌、肺癌などの上皮性腫瘍に広く適応可能な腫瘍抗原の同定が重要である。これに関して、本発明者らは食道癌由来の扁平上皮癌細胞から新規な腫瘍抗原タンパク質をコードする遺伝子のクローニングを行い、HLAの型がHLA-A24あるいはHLA-A26であるHLA抗原に結合して提示されるいくつかの腫瘍抗原ペプチドを、メラノーマ以外の腫瘍細胞から初めて同定した (J.Exp.Med., 187:277, 1998、国際公開公報 W097/46676)。

【0006】

これらの腫瘍抗原ペプチドを実際に臨床に適用する際には、1種のみならず、複数の異なる腫瘍抗原ペプチドを使用することが望ましい。すなわち、全ての癌細胞が共通に同一の腫瘍抗原を発現しているとは限らず、また、一つの癌細胞上に2種以上の異なる腫瘍抗原ペプチドが提示されていることを考慮すると、複数の異なる腫瘍抗原ペプチドを用いた治療がより効果的であると考えられる。事実、メラノーマにおいては、単一の腫瘍抗原由来のペプチドのみでは効果が不十分であったことから、複数のペプチドのカクテル製剤の開発が試みられている (Int.J.Cancer, 66:162, 1996, Int.J.Cancer, 67:54, 1996)。このような背景から、発生頻度の高い胃癌、肺癌などの上皮性腫瘍において幅広く適用可能な、新たな腫瘍抗原タンパク質および腫瘍抗原ペプチドの同定が望まれている状況にある。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、新規な腫瘍抗原ペプチドを提供することを目的とする。すなわち本発明は、サイクロフィリンB由来の腫瘍抗原ペプチドおよび機能的に同等の特性を有するその誘導体、あるいはこれらの腫瘍抗原ペプチドおよびその誘導体を in

vivoまたはin vitroで利用した腫瘍の治療または予防剤などを提供することを目的とする。本発明のサイクロフィリンB由来腫瘍抗原ペプチドは、日本人や白人が高い確率で保有しているHLA抗原、すなわちHLA-A24およびHLA-A2に結合して提示される腫瘍抗原ペプチドを含むものであり、さらに肺癌、膀胱癌、骨肉腫等の上皮性腫瘍あるいは白血病といった幅広い腫瘍の治療あるいは予防に応用可能な腫瘍抗原ペプチドであることから、新規な抗腫瘍剤としての有用性が予想される。

【0008】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、HLA-A24あるいはHLA-A2に結合して提示される新たな腫瘍抗原ペプチドおよびその由来となる腫瘍抗原タンパク質を得るために、以下の試みを行った。

まず本発明者らは、肺腺癌患者のリンパ球より、HLA-A24あるいはHLA-A2陽性の膀胱癌、肺癌、骨肉腫あるいは白血病細胞株等を認識するCTL株を樹立し、これをKG-CTL（受託番号:FERM P-16854）と命名した。

【0009】

つづいて、前記KG-CTLが強く反応する膀胱癌細胞株HT-1376からcDNAライブラリーを作製し、該ライブラリーの組換えプラスミドとHLA-A2402(HLA-A24の一種)cDNAの組換えプラスミドをCOS-7細胞にダブルトランスフェクトし、そのトランスフェクタントに先のKG-CTLを作用させ、KG-CTLが活性化されるか否かをIFN- γ の産生量で測定するというスクリーニングを繰り返すことにより、最終的に、1種の腫瘍抗原タンパク質の遺伝子のクローニングに成功した。塩基配列決定の結果、該腫瘍抗原タンパク質は、サイクロフィリンBという既知のタンパク質と同一のアミノ酸配列を有することが明らかとなった。

サイクロフィリンBは、免疫抑制剤であるサイクロスボリンAの結合タンパク質であり、免疫細胞の活性化に関与することが知られている。しかし腫瘍抗原としての機能は、本発明以前には知られていなかったことである。

【0010】

本発明者らはさらに、該サイクロフィリンBのアミノ酸配列において、HLA-A2

4およびHLA-A2に結合して提示される腫瘍抗原ペプチド部分を同定し、これらのペプチドおよび該ペプチドの誘導体に、腫瘍抗原ペプチドとしての活性の存することを明らかにした。

本発明は、以上のような知見に基づき完成するに至ったものである。

【0011】

すなわち本発明の要旨は、

- (1) サイクロフィリンB由来の部分ペプチドであって、かつHLA抗原と結合して細胞障害性T細胞により認識され得る腫瘍抗原ペプチド、あるいは機能的に同等の特性を有するその誘導体、
- (2) HLA抗原がHLA-A24あるいはHLA-A2である前記(1)記載の腫瘍抗原ペプチド、あるいは機能的に同等の特性を有するその誘導体、
- (3) 配列番号：1または配列番号：2に記載のアミノ酸配列の全部もしくは一部を含む前記(1)または(2)記載の腫瘍抗原ペプチド、あるいは機能的に同等の特性を有するその誘導体、
- (4) 配列番号：1または配列番号：2に記載のアミノ酸配列の第2位及び／又は第9位が他のアミノ酸残基に置換されたアミノ酸配列の全部もしくは一部を含む、前記(3)記載の腫瘍抗原ペプチド誘導体、
- (5) 以下のアミノ酸配列の全部もしくは一部を含む、前記(4)記載の腫瘍抗原ペプチド誘導体、

Lys-X-His-Arg-Val-Ile-Lys-Asp-Y；

(ここでXはフェニルアラニン、チロシン、メチオニンあるいはトリプトファンであり、Yはフェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、トリプトファンあるいはメチオニンである)、

- (6) 以下のアミノ酸配列の全部もしくは一部を含む、前記(4)記載の腫瘍抗原ペプチド誘導体、

Asp-X-Met-Ile-Gln-Gly-Gly-Asp-Y；

(ここでXはフェニルアラニン、チロシン、メチオニンあるいはトリプトファンであり、Yはフェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、トリプトファンあるいはメチオニンである)、

- (7) 前記(1)～(6)いずれか記載の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体を有効成分として含有する、腫瘍の治療または予防剤、
- (8) サイクロフィリンB、あるいは該サイクロフィリンBをコードする遺伝子を有効成分として含有する、腫瘍の治療または予防剤、
- (9) 前記(1)～(6)いずれか記載の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体に特異的に結合する抗体、
- (10) 腫瘍患者から単離された抗原提示細胞の表面に、HLA抗原と前記(1)～(6)いずれか記載の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体との複合体を提示させた後、この抗原提示細胞を患者の体内に戻すことを特徴とする、前記腫瘍患者に対する治療剤、
- (11) HLA抗原と前記(1)～(6)いずれか記載の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体との複合体を特異的に認識する、細胞障害性T細胞、ならびに
- (12) 前記(11)記載の細胞障害性T細胞からなる腫瘍の治療剤、に関する。

【0012】

【発明の実施の形態】

本発明の腫瘍抗原ペプチドとは、サイクロフィリンB由来の部分ペプチドであって、かつHLA抗原と結合してCTLに認識され得る腫瘍抗原ペプチドである。すなわち、WWW EntrezデータベースにおいてAccession No.M60857として登録されており、Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.,88:p1903-1907,1991に記載されているヒトサイクロフィリンBのアミノ酸配列の一部よりなるペプチドであって、かつ、該ペプチドとHLA抗原との結合複合体がCTLにより認識され得るようなペプチドであれば全て、本発明の腫瘍抗原ペプチドの範疇に含まれる。このような本発明の腫瘍抗原ペプチドは、サイクロフィリンBの一部よりなる候補ペプチドを合成し、該候補ペプチドとHLA抗原との複合体がCTLにより認識されるか否かをアッセイすることにより、同定することができる。

【0013】

ここで、ペプチドの合成については、通常のペプチド化学において用いられる方法に準じて行うことができる。該公知方法としては文献(ペプタイド・シンセ

シス (Peptide Synthesis) , Interscience, New York, 1966 ; ザ・プロテインズ (The Proteins) , Vol 2, Academic Press Inc., New York, 1976 ; ペプチド合成, 丸善 (株) , 1975 ; ペプチド合成の基礎と実験、丸善 (株) , 1985 ; 医薬品の開発 続 第14巻・ペプチド合成, 広川書店, 1991) などに記載されている方法が挙げられる。

【0014】

次に、候補ペプチドの同定方法につき、以下に記述する。

HLA-A1, -A0201, -A0205, -A11, -A24, -A31, -A6801, -B7, -B8, -B2705, -B37, -Cw0401, -Cw0602などのHLAの型については、該HLAに結合して提示される抗原ペプチドの配列の規則性 (モチーフ) が判明している (例えば *Immunogenetics*, 41:p178, 1995などを参照のこと)。特に、HLA-A2のモチーフについては *Immunogenetics*, 41, p178, 1995及び *J. Immunol.*, 155:p4749, 1995に詳述されており、また、HLA-A24のモチーフについては *J. Immunol.*, 152, p3913, 1994に詳述されている。ペプチドの長さとしては、各種HLA分子に結合している抗原ペプチドの解析により (*Immunogenetics*, 41:178, 1995)、通常8から14アミノ酸程度であることが明らかにされている (ただしHLA-DR、-DP、-DQについては、14アミノ酸以上の長さの抗原ペプチドも認められる)。

これらのモチーフを有するペプチド部分を前記サイクロフィリンBのアミノ酸配列中から選び出し、選び出された候補ペプチドを前述の方法にて合成し、該候補ペプチドとHLA抗原との複合体がCTLにより認識されるか否かを測定することにより、本発明の腫瘍抗原ペプチドを同定することができる。

【0015】

具体的な同定法としては、例えば *J. Immunol.*, 154, p2257, 1995に記載の方法が挙げられる。すなわち、候補ペプチドを提示すると考えられるタイプのHLA抗原が陽性のヒトから末梢血リンパ球を単離し、*in vitro*で該候補ペプチドを添加して刺激した場合に、該候補ペプチドをパルスしたHLA抗原陽性細胞を特異的に認識するCTLが誘導された場合は、該候補ペプチドが腫瘍抗原ペプチドに成り得ることが示される。ここでCTLの誘導の有無は、例えば、抗原ペプチド提示細胞に反応してCTLが産生する種々のサイトカイン (例えばIFN- γ) の量を測定する

ことによって調べることができる。また⁵¹Crで標識した抗原ペプチド提示細胞に対するCTLの障害性を測定する方法 (⁵¹Crリリースアッセイ、Int.J.Cancer,58:p 317,1994) によっても調べることができる。

【0016】

以上のような腫瘍抗原ペプチドの配列の規則性（モチーフ）が判明している場合と異なり、例えばHLA-A26のようにそのペプチドのモチーフが明らかではない場合は、該HLA-A26と腫瘍抗原ペプチドとの複合体を認識するCTL株が存在する場合には、例えばWO97/46676に記載の方法に準じて本発明の腫瘍抗原ペプチドを同定することができる。

なお、以上述べたような腫瘍抗原ペプチドの同定法を、以下、“腫瘍抗原ペプチドのアッセイ法”と総称することもある。

【0017】

サイクロフィリンB由来のペプチドのうち、HLA-A24に結合して提示される腫瘍抗原ペプチドのモチーフを有しているものとしては、例えば配列番号：1～配列番号：11に記載のペプチドが挙げられ、またHLA-A2に結合して提示される腫瘍抗原ペプチドのモチーフを有しているものとしては、例えば配列番号：12～配列番号：36に記載のペプチドが挙げられる。これらのペプチドを先の腫瘍抗原ペプチドのアッセイ法に供することにより、本発明の腫瘍抗原ペプチドを同定することができる。

【0018】

本発明の腫瘍抗原ペプチドのうちHLA-A24に結合して提示されるペプチドの好適なものとしては、例えば、1)配列番号：1に記載のペプチド (Lys-Phe-His-Arg-Val-Ile-Lys-Asp-Phe)、2)配列番号：2に記載のペプチド (Asp-Phe-Met-Ile-Gln-Gly-Gly-Asp-Phe)、あるいは3)該配列番号：1または配列番号：2に記載のアミノ酸配列の全部を含み該アミノ酸配列より長いペプチド、あるいは該配列番号：1または配列番号：2に記載のアミノ酸配列の一部よりなるペプチドであって、かつHLA抗原と結合してCTLにより認識されるペプチドなどが挙げられる。前記3)のペプチドの長さとしては、8～11アミノ酸程度の長さを有するものが考えられる。

【0019】

本発明はさらに、前記本発明の腫瘍抗原ペプチドのみならず、該腫瘍抗原ペプチドと機能的に同等の特性を有する腫瘍抗原ペプチド誘導体をも含むものである。

ここで「腫瘍抗原ペプチド誘導体」とは、本発明の腫瘍抗原ペプチドのアミノ酸配列の一部を改変した改変体であって、かつHLA抗原と結合してCTLにより認識され得るという腫瘍抗原ペプチドとしての特性を有するものを指す。このような本発明の腫瘍抗原ペプチド誘導体は、本発明の腫瘍抗原ペプチドの一部を改変した改変体を前記ペプチド合成法に基づき合成し、これを前記腫瘍抗原ペプチドのアッセイ法に供することにより、同定ことができる。

【0020】

先に記載したように、HLA-A1, -A0201, -A0205, -A11, -A24, -A31, -A6801, -B7, -B8, -B2705, -B37, -Cw0401, -Cw0602などのHLAの型については、該HLAに結合して提示される抗原ペプチドの配列の規則性（モチーフ）が判明している。従って、該モチーフに基づき、本発明の腫瘍抗原ペプチドのアミノ酸を改変した誘導体を作製することが可能である。

【0021】

例えばHLA-A24に結合して提示される抗原ペプチドのモチーフとしては、8~11アミノ酸よりなるペプチドのうちの第2位のアミノ酸がチロシン、フェニルアラニン、メチオニンあるいはトリプトファンであり、C末端のアミノ酸がフェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、トリプトファンあるいはメチオニンであることが知られている（J. Immunol., 152:p3913,1994）。またHLA-A2の結合モチーフとしては、8~11アミノ酸よりなるペプチドであり、HLA-A0201においては第2位がロイシンあるいはメチオニンであり、C末端のアミノ酸がバリンあるいはロイシンであること、HLA-A0204においては第2位がロイシンでありC末端がロイシンであること、HLA-A0205においては第2位がバリン、ロイシン、イソロイシン又はメチオニンであり、C末端がロイシンであること、HLA-A0206においては第2位がバリンあるいはグルタミンであり、C末端がバリンあるいはロイシンであること、さらにHLA-A0207においては第2位がロイシンでありC末端がロイシンである

ことが知られている (Immunogenetics, 41:p178, 1995, J. Immunol., 155:p4749, 1995)。従って、本発明の腫瘍抗原ペプチド誘導体の例として、これらモチーフ上アミノ酸の置換が可能な位置 (HLA-A24, HLA-A2においては第2位とC末端) にあるアミノ酸を他のアミノ酸に置換したものが、好ましくは、該位置において、前記モチーフ上置換が可能なアミノ酸の中から置換するアミノ酸を選択した腫瘍抗原ペプチド誘導体が挙げられる。ペプチドの長さとしては、8~11アミノ酸程度が好ましい。

【0022】

具体的には、HLA-A24に拘束性の腫瘍抗原ペプチドの誘導体としては、例えば前記配列番号1~11に記載のアミノ酸配列の第2位及び/又はC末端を前記モチーフ上置換が可能なアミノ酸に置換したもの、すなわち配列番号1~11に記載のアミノ酸配列の第2位をチロシン、フェニルアラニン、メチオニンあるいはトリプトファンのいずれかに置換し、及び又はC末端をフェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、トリプトファンあるいはメチオニンのいずれかに置換したものが挙げられる。また、HLA-A2に拘束性の腫瘍抗原ペプチド誘導体としては、例えば前記配列番号：12~36に記載のアミノ酸配列の第2位及び/又はC末端を前記モチーフ上置換が可能なアミノ酸に置換したもの、すなわち配列番号：12~36に記載のアミノ酸配列の第2位をロイシン、メチオニン、バリン、イソロイシンあるいはグルタミンのいずれかに置換し、及び又はC末端をバリンあるいはロイシンに置換したものなどが挙げられる。

【0023】

先に、本発明の腫瘍抗原ペプチドのうちHLA-A24に結合して提示されるペプチドの好適なものとして挙げた配列番号：1または配列番号：2に記載のアミノ酸配列の全部もしくは一部を含む腫瘍抗原ペプチドの誘導体に関しても、種々合成したペプチド誘導体を、前記腫瘍抗原ペプチドのアッセイ法に供することにより同定することができる。好ましい態様としては、配列番号：1または配列番号：2に記載のアミノ酸配列の第2位及び/又は第9位 (C末端) を他のアミノ酸残基に置換したアミノ酸配列の全部もしくは一部を含む腫瘍抗原ペプチド誘導体が挙げられ、より好ましくは、前記モチーフに基づきアミノ酸を置換したものが挙げ

られる。すなわち、配列番号：1あるいは配列番号：2に記載のアミノ酸配列の第2位がフェニルアラニン、チロシン、メチオニンあるいはトリプトファンであり、第9位（C末端）がフェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、トリプトファンあるいはメチオニンである配列（それぞれ配列番号：37、配列番号：38）の全部もしくは一部を含むものが挙げられる。特に、配列番号：1あるいは配列番号：2のアミノ酸配列の第2位のフェニルアラニンをチロシンに改変した配列（それぞれ配列番号：39、配列番号：40）の全部もしくは一部を含む腫瘍抗原ペプチド誘導体が、より好ましい。

【0024】

以上のようにして作製された腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体を単独あるいは2種以上組み合わせることにより、腫瘍の治療または予防剤として使用することができる。すなわち、本発明の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体を生体に投与すると、抗原提示細胞のHLA抗原に腫瘍抗原ペプチドが提示され、腫瘍特異的CTLが増殖して腫瘍細胞を破壊することができるため、前記腫瘍の治療または予防が可能となる。これらを有効成分として含有する医薬は、細胞性免疫が効果的に成立するようにアジュバントとともに投与したり、粒子状の剤型にして投与することができる。アジュバントとしては、文献（Clin. Microbiol. Rev., 7:277-289, 1994）に記載のものなどが応用可能である。また、リポソーム製剤、直径数 μ mのビーズに結合させた粒子状の製剤、リピッドを結合させた製剤なども考えられる。投与方法としては、皮内投与、皮下投与、静脈注射などが考えられる。製剤中の本発明の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体の投与量は、治療目的の疾患、患者の年齢、体重等により適宜調整することができるが、通常0.001mg～1000mg、好ましくは0.001mg～1000mg、より好ましくは0.1mg～10mgであり、これを数日ないし数月に1回投与するのが好ましい。

【0025】

さらに、本発明の腫瘍抗原ペプチドの由来であるサイクロフィリンBタンパク質あるいは該サイクロフィリンBをコードする遺伝子もまた、腫瘍の治療または予防剤として使用することができる。

すなわち、サイクロフィリンBタンパク質そのものを腫瘍の治療または予防剤

として適用する際には、前記腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体と同様の投与形態、投与方法、投与量により、投与することができる。

【0026】

また、サイクロフィリンBをコードする遺伝子を腫瘍の治療または予防剤として適用する際には、以下の方法が使用され得る。

すなわち、本発明の遺伝子を投与し細胞内に導入する方法としては、ウイルスベクターによる方法およびその他の方法（日経サイエンス、1994年4月号、20-45頁、月刊薬事、36(1), 23-48(1994)、実験医学増刊、12(15), (1994)、およびこれらの引用文献等）のいずれの方法も適用することができる。

【0027】

ウイルスベクターによる方法としては、例えばレトロウイルス、アデノウイルス、アデノ関連ウイルス、ヘルペスウイルス、ワクシニアウイルス、ポックスウイルス、ポリオウイルス、シンビスウイルス等のDNAウイルス又はRNAウイルスに本発明のDNAを組み込んで導入する方法が挙げられる。この中で、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ関連ウイルス、ワクシニアウイルス等を用いた方法が特に好ましい。

その他の方法としては、発現プラスミドを直接筋肉内に投与する方法（DNAワクチン法）、リポソーム法、リポフェクチン法、マイクロインジェクション法、リン酸カルシウム法、エレクトロポレーション法等が挙げられ、特にDNAワクチン法、リポソーム法が好ましい。

【0028】

本発明の遺伝子を実際に医薬として作用させるには、当該遺伝子を直接体内に導入する *in vivo*法、およびヒトからある種の細胞を採取し体外でDNAを該細胞に導入し、その細胞を体内に戻す *ex vivo*法がある（日経サイエンス、1994年4月号、20-45頁、月刊薬事、36(1), 23-48(1994)、実験医学増刊、12(15), (1994)、およびこれらの引用文献等）。

【0029】

*in vivo*法により投与する場合は、治療目的の疾患、症状等に応じた適当な投与経路により投与され得る。例えば、静脈、動脈、皮下、皮内、筋肉内等に投与

することができる。 *in vivo*法により投与する場合は、例えば、液剤等の製剤形態をとりうるが、一般的には有効成分である本発明のDNAを含有する注射剤等とされ、必要に応じて、慣用の担体を加えてよい。また、本発明の遺伝子を含有するリポソームまたは膜融合リポソーム（センダイウイルス（H V J）-リポソーム等）においては、懸濁剤、凍結剤、遠心分離濃縮凍結剤等のリポソーム製剤の形態とすることができます。

製剤中の本発明の遺伝子の含量は、治療目的の疾患、患者の年齢、体重等により適宜調整することができるが、通常、0.0001mg～100mg、好ましくは0.001mg～10mgの本発明の遺伝子を、数日ないし数月に1回投与するのが好ましい。

【0030】

なお、以上のように治療剤として使用され得るサイクロフィリンBおよび該サイクロフィリンBをコードする遺伝子は、以下のようにして製造することができる。すなわち、サイクロフィリンBをコードする遺伝子は、WWW EntrezデータベースにおいてAccession No.M60857として登録されているヒトサイクロフィリンBのcDNAの塩基配列をもとに適当なPCRプライマーを作製し、例えばMolecular Cloning 2nd Edt. Cold Spring Harbor Laboratory Press(1989)等の基本書に従ってPCR反応を行うことなどにより、容易にクローニングできる。その際、当該サイクロフィリンBのクローニングに関する文献であるProc.Natl.Acad.Sci., U.S.A.88:p1903,1991も参考にすることができる。さらに、このようにしてクローニングされたヒトサイクロフィリンBをコードする遺伝子を用いてサイクロフィリンBタンパクを発現させる方法としては、例えば、前述のMolecular Cloning 等の多くの成書や文献に基づいて実施することができる。発現させたいDNAの上流に、転写を制御するプロモーター配列（例えば、t r p, lac, T7、SV40初期プロモーター）等の制御遺伝子を付加し、適当なベクター（例えばpSV-SPORT1など）に組み込むことにより、宿主細胞内で複製し、機能する発現プラスミドを作製する。次に発現プラスミドを適当な宿主細胞に導入して形質転換体を得る。宿主細胞としては、大腸菌などの原核生物、酵母のような単細胞真核生物、昆虫、動物などの多細胞真核生物の細胞などが挙げられる。また、宿主細胞への遺伝子導入法としては、リン酸カルシウム法、DEAE-デ

キストラン法、電気パルス法などがある。形質転換体は、適当な培地で培養することによって目的とするタンパク質を生産する。以上のようにして得られた腫瘍抗原タンパク質は一般的な生化学的方法によって単離精製することができる。

【0031】

本発明においては、本発明の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体に特異的に結合する抗体も含まれる。該抗体は、例えば、Antibodies: A Laboratory Manual, Lane, H, D.ら編, Cold Spring Harbor Laboratory Press出版 New York 1989などに記載の方法により容易に作製される。即ち、本発明の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体を用いて常法により適宜動物を免疫することにより、腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体を認識する抗体、さらにはその活性を中和する抗体が容易に作製できる。抗体の用途としては、アフィニティーコロマトグラフィー、免疫学的診断等が挙げられる。免疫学的診断は、イムノプロット法、放射免疫測定法（RIA）、酵素免疫測定法（ELISA）、蛍光あるいは発光測定法等より適宜選択できる。

【0032】

本発明の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体は、腫瘍患者の治療において、以下のように *in vitro* で利用することも可能である。

すなわち、腫瘍抗原ペプチドを腫瘍の治療に用いる場合、患者の体内で効率良く特異的なCTLを誘導することの可能な投与法が重要になる。そのための手段のひとつとして、腫瘍患者から抗原提示細胞を単離し、該抗原提示細胞に本発明の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体を体外でパルスしてHLA抗原と前記ペプチドあるいはその誘導体との複合体を作製した後、このペプチドパルスされた抗原提示細胞を患者の体内に戻す治療方法が考えられる（Cancer Immunol. Immunother., 46:82, 1998）。抗原提示細胞としては、特に抗原提示能が高いとされる樹状細胞が好ましい。なお、HLA-A24に陽性の腫瘍患者に対してはHLA-A24拘束性の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体を使用するといった、患者と使用するペプチドとでHLAの型を合わせる必要のあることは言うまでもない。

【0033】

さらに、本発明の腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体の *in vitro* での利用法

として、以下の養子免疫療法における利用が挙げられる。

すなわちメラノーマにおいては、患者本人の腫瘍内浸潤T細胞を体外で大量に培養して、これを患者に戻す養子免疫療法に治療効果が認められている (J.Natl.Cancer.Inst.,86:1159, 1994)。またマウスのメラノーマにおいては、脾細胞を *in vitro* で腫瘍抗原ペプチドTRP-2で刺激し、腫瘍抗原ペプチドに特異的なCTLを増殖させ、該CTLをメラノーマ移植マウスに投与することにより、転移抑制が認められている (J.Exp.Med.,185:453, 1997)。すなわちこれは、抗原提示細胞のHLA抗原と腫瘍抗原ペプチドとの複合体を特異的に認識するCTLを *in vitro* で増殖させた結果に基づくものである。従って、本発明の腫瘍抗原ペプチドを用いて、*in vitro* で患者末梢血リンパ球を刺激して腫瘍特異的CTLを増やした後、このCTLを患者に戻す治療法は有用であると考えられる。

【0034】

【実施例】

以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例によりなんら限定されるものではない。

【0035】

実施例1

肺腺癌由来の腫瘍内浸潤リンパ球 (TIL) からの細胞傷害性T細胞 (CTL) 株の樹立

肺腺癌患者の手術検体を培養液中で細切した後、コラゲナーゼ及びDNAaseを含む培養液中で攪拌して細胞を分散させた。細胞分散液からFicoll Conray溶液を用いて、比重遠心法によりリンパ球を分離した。リンパ球は、24穴プレートを用い、45% RPMI-1640、45% AIM-V (GIBCO BRL社)、10% FCSに、100U/mlインターロイキン-2、0.1mM NEAA (GIBCO BRL社製) を添加した培養液（以下、リンパ球培養液と呼ぶ）で培養した。培養開始から2日間は、培養液中に抗CD3抗体のNU-T3 (ニチレイ社製) を1μg/ml添加した。30日以上培養を続け、HLA-A24またはHLA-A2陽性の何種類かの癌細胞株に反応するCTL株を樹立し、KG-CTLと命名して以下の実験に使用した。各種癌細胞株に対するKG-CTLの反応性は、96穴プレートに癌細胞株を 1×10^4 個/穴植え込み、翌日にKG-CTLを 1×10^5 個/穴添加して、更に

18時間培養した後、培養液を回収してKG-CTLが産生したインターフェロン- γ (IFN- γ) 量を測定することにより調べた。IFN- γ の定量は、エンザイムイムノアッセイ(ELISA)により行った。すなわち、96穴プレートに固相化抗体として抗ヒトIFN- γ マウスモノクローナル抗体を吸着させ、ウシ血清アルブミンで非特異的結合をブロックした後、検体中のIFN- γ を抗体に結合させた。次に検出抗体として抗ヒトIFN- γ ウサギポリクローナル抗体を結合させ、さらにアルカリフェオスファターゼ標識した抗ウサギイムノグロブリンヤギ抗体(アマシャム社製)を結合した後、ペルオキシダーゼ発色キットT(住友ベークライト社製)を用いて発色させた後、吸光度(405nm)を測定した。これをスタンダードのIFN- γ で得られた値と比較することにより定量した。表1に、各種腺癌細胞株に対するKG-CTLの反応性を示す。また、表2にリンパ球系細胞株に対するKG-CTLの反応性を示す。

【0036】

【表1】

腺癌細胞株名称	KG-CTLが産生したIFN- γ 量(pg/ml)	HLA-Aタイプ
HT-1376(膀胱癌細胞株)	4608	2402/2402
1-87(肺癌細胞株)	194	0207/1101
11-18(肺癌細胞株)	4632	0201/2402
PC-9(肺癌細胞株)	1102	0206/2402
LC-1(肺癌細胞株)	129	3101/3302
YT-803(肺癌細胞株)	285	3101/3302
143B(骨肉腫細胞株)	1547	0211/0211
なし(KG-CTLのみ)	100	—

【0037】

【表2】

細胞株	KG-CTLが産生したIFN- γ 量(pg/ml)	HLA-Aタイプ
SSB(B細胞株 ¹⁾)	5769	2402/2402
Ban-B1(B細胞株 ¹⁾)	78	3101/3302
HPB-MLT(白血病細胞株)	189	0101/0201
MOLT-16(白血病細胞株)	13	2301/3002

MT-2 (白血病細胞株)	3495	2402/2402
なし(KG-CTLのみ)	0	—

1) 健常人のB細胞をEBウイルスでトランスフォームしたB細胞株

【0038】

表1の結果より、KG-CTLは、表中のHLA-A2402陽性の癌細胞 (HT-1376、11-18、PC-9) に強く反応してIFN- γ を産生すること、HLA-A2陽性の癌細胞 (143B) にも反応してIFN- γ を産生することが示された。また表2の結果より、KG-CTLは、HLA-A2402陽性のEBウイルスでトランスフォームしたB細胞株や白血病細胞株 (SSB、MT-2) に強く反応すること、HLA-A2陽性の白血病細胞 (HPB-MLT) に対しても反応することが明らかになった。

【0039】

樹立された KG-CTLは、茨城県つくば市東1丁目1番3号、工業技術院生命工学工業技術研究所に受託番号FERM P-16854として寄託されている (受託日: 平成10年6月19日)。なお、中尾ら著、Cancer Res., 55:4248-4252(1995)記載の方法に従い、KG-CTLのHLA分子のタイプングを行った結果 (塩野義製薬(株)により実施)、AローカスはA0206及びA2402であることが確認された。

【0040】

実施例2

腫瘍抗原タンパク質の同定

実施例1でKG-CTLが強く反応した膀胱癌細胞株HT-1376 (ATCC番号CRL1472) から以下の方法によりcDNAライブラリーを作製した。

まず、HT-1376からmRNA精製システム (ファルマシアバイオテク社製) を用い、添付のプロトコールに従い、全RNA画分の分離および oligo(dT)カラムによる poly(A)⁺ mRNAの調製を行った。mRNAよりスーパースクリプトプラスミドシステム (GIBCO BRL社製) を用い添付のプロトコールに従い、両端にNotIアダプターとSalIアダプターを連結したcDNAを作製した後、このcDNAを発現ベクターのプラスミドpSV-SPORT1 (GIBCO BRL 社製) の制限酵素NotIおよびSalIの切断部位にライゲーションにより連結して組換えプラスミドを得た。この組換えプラスミドをジーンパルサー (Bio-Rad社製) を用いて電気パルスにより大腸菌の

エレクトロマックス DH10BTMセル(GIBCO BRL社製)に導入し、アンピシリン(50 $\mu\text{g}/\text{ml}$)を含むLB培地(1%バクトリプトン、0.5%イーストエキス、0.5%NaCl、pH7.3)で組換えプラスミドが導入されている形質転換体を選択した。

【0041】

この形質転換体の100個のプールからの組換えプラスミドDNAの回収は以下のように行った。すなわち、アンピシリン(50 $\mu\text{g}/\text{ml}$)を含むLB培地の入った96ウェルU底マイクロプレートにウェルあたり100個の形質転換体を加え培養後、その一部をウェル当たり0.25mlのTYGPN培地(F.M. Ausubelら編、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley & Sons, Inc.)の入った別の96ウェルU底マイクロプレートに移して37°Cで48時間培養し、残りのLB培地のマイクロプレートは凍結保存した。TYGPN培地で培養した形質転換体の組換えプラスミドDNAは、マイクロプレートでアルカリ溶解法(F.M. Ausubelら編、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley & Sons, Inc.)により調製した。イソプロパノール沈殿で回収した組換えプラスミドDNAは、50 μl の20ng/ml RNaseを含む10mM Tris, 1mM EDTA, pH7.4溶液で懸濁した。

【0042】

一方、食道癌細胞株KE-4(受託番号: FERM BP-5955)から、中尾ら著、Cancer Res., 55:4248-4252(1995)の記載に従い、HLA-A2402およびHLA-A2601のcDNAを、発現ベクターpCR3(INVITROGEN社製)に組み込んだ組換えプラスミドを作製した。

【0043】

次に、アフリカミドリザルの腎臓由来の細胞株COS-7(ATCC番号CRL1651)へ、リポフェクチン法により以下のようにHT-1376 cDNAの組換えプラスミドとHLA-A2402 cDNAの組換えプラスミドをダブルトランスフェクトした。すなわち、COS-7を96ウェル平底マイクロプレートにウェル当たり8000個を加えて、100 μl の10% FCSを含むRPMI1640培養液で1日間培養した。リポフェクトアミン試薬(GIBCO BRL社製)を用い、形質転換体約100個分のHT-1376 cDNAの組換えプラスミド25 μl とHLA-A2402 cDNAの組換えプラスミド10 μl (200ng)と約50倍に希釈したリポフェクチン試薬35 μl の混合液70 μl のうち、30 μl をCOS-7に加えてダブ

ルトランスフェクトした。トランスフェクタントは2点ずつ用意した。5時間後、このトランスフェクタントに200 μ lの10% FCSを含む培養液を加え、更に48時間、37°Cで培養した後、培養液を除去し、ウェル当たり 1.5×10^5 個のKG-CTLを加えて100 μ lの10%FCSと25U/mlのIL-2を含む培養液で37°Cで24時間培養した。培養後、培養液を回収し、実施例1に記載のELISA法にてIFN- γ 量を測定した。

【0044】

高いIFN- γ 産生が認められた群については、該当する凍結保存してあったHT-1376 c DNAの組み換えプラスミドによる形質転換体約100個のプールを用いてさらに以下のようにスクリーニングを行った。すなわち、形質転換体のプールをアンピシリン(50 μ g/ml)を含むLB寒天培地のプレートにまいてコロニーを得て、各群400コロニーについてウェル当たりの形質転換体が1種類となる条件で上記と同様の方法で培養し、HT-1376 c DNAの組換えプラスミドDNAを調製した。さらに上記と同様な方法で、COS-7へのHT-1376 c DNAの組換えプラスミドとHLA-A2402 c DNAの組換えプラスミドのダブルトランスフェクトを行い、引き続いてKG-CTLとの混合培養を行い、KG-CTLが反応して産生した培養液中のIFN- γ の定量を行って陽性のプラスミドを選択した。この操作によりHT-1376 c DNA組換えプラスミドクローニングが選択され、これを4F2と命名した。4F2については、さらにもう一度、同様な操作を繰り返してKG-CTLによるIFN- γ の産生量を測定した。その結果を以下の表3に示す。

【0045】

【表3】

細胞	KG-CTLが産生したIFN- γ 量(pg/ml)
COS-7 + HLA-A2402	469
COS-7 + HLA-A2402 + 4F2	543

【0046】

KG-CTLは、COS-7にHLA-A2402のみをトランスフェクトした細胞に対してよりも、COS-7にHLA-A2402と4F2とをダブルトランスフェクトした細胞に対して、より強く反応してIFN- γ を産生した。この結果から4F2がコードするタンパク質は、腫瘍抗原タンパク質であることが示された。

【0047】

実施例3

腫瘍抗原タンパク質遺伝子の塩基配列の決定

実施例2で得られた腫瘍抗原タンパク質をコードするプラスミドクローン4F2についてDyeDeoxy Terminator Cycle Sequencingキット（パーキンエルマー社製）を使用して、その塩基配列を決定した。決定した塩基配列及び該塩基配列によりコードされるアミノ酸配列を、WWW Entrezデータベースを使用して既知の配列と比較した結果、プラスミドクローン4F2の塩基配列は、Accession No. M60857に登録されているHuman cyclophilin B（ヒトサイクロフィリンB）のアミノ酸配列と同一であった。なお、該サイクロフィリンBの配列は、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 88:p1903, 1991にも記載されている。該サイクロフィリンBは免疫抑制剤であるサイクロスボリンAの結合タンパク質であり、生体内において免疫細胞の活性化に関与することが知られている。上記実施例2により、これまで免疫細胞の活性化への関与のみが知られていたサイクロフィリンBに、腫瘍抗原タンパク質としての機能の存することが初めて明らかとなった。

【0048】

実施例4

候補ペプチドの選択

HLA分子に結合して提示される抗原ペプチドの配列には規則性（モチーフ）があり、HLA-A24の場合、8~11アミノ酸よりなるペプチドの第2位がチロシン、フェニルアラニン、メチオニンあるいはトリプトファン、またC末端がフェニルアラニン、トリプトファン、ロイシン、イソロイシンあるいはメチオニンがモチーフとなることが知られている（Immunogenetics, 41:178, 1995、J. Immunol., 152:3913, 1994、J. Immunol., 155:4307, 1994）。またHLA-A2の場合、8~11アミノ酸よりなるペプチドであり、HLA-A0201においては第2位がロイシンあるいはメチオニンであり、C末端がバリンあるいはロイシンであること、HLA-A0204においては第2位がロイシンでありC末端がロイシンであること、HLA-A0205においては第2位がバリン、ロイシン、イソロイシン又はメチオニンであり、C末端がロイシンであること、HLA-A0206においては第2位がバリンあるいはグルタミン

であり、C末端がバリンあるいはロイシンであること、さらにHLA-A0207においては第2位がロイシンでありC末端がロイシンであることが知られている (Immunogenetics, 41:p178, 1995、J. Immunol., 155:p4749, 1995)。

【0049】

このようなモチーフに従い、本発明者らが腫瘍抗原タンパク質として機能していることを見出したサイクロフィリンBのアミノ酸配列 (WWW Entrezデータベース Accession No. M60857) から、上記モチーフを有する8~11アミノ酸よりなるペプチド部分を選択した。選択したHLA-A24の結合モチーフを有するペプチドを配列番号：1~配列番号：11に、またHLA-A2の結合モチーフを有するペプチドを配列番号：12~配列番号：36に示す。これらのペプチドは(株)バイオロジカに依頼し、Fmoc法にて合成を行った。

【0050】

次にHLA-A2402 cDNAの組換えプラスミドを文献 (J. Exp. Med., 187:277, 1998) の記載に従い、 10^4 個のCOS-7細胞にリポフェクチン法にてトランスフェクションしてHLA-A2402を発現させた。この細胞に対し、先に合成したHLA-A24の結合モチーフを有する各種ペプチドをそれぞれ $10\mu M$ で2時間添加してパルスした後、 2×10^4 個のKG-CTLとともに18時間培養し、KG-CTLが產生した培養上清中のIFN- γ 量をELISA法にて測定した。その後、2種のペプチド、すなわちサイクロフィリンBのアミノ酸配列の第84位から第92位の配列よりなるペプチド (配列番号：1、以下、該ペプチドを単に「84-92」と称することもある)、及び第91位から第99位の配列よりなるペプチド (配列番号：2、以下、該ペプチドを単に「91-99」と称することもある)を以下の実験に供した。

【0051】

実施例5

L y s - P h e - H i s - A r g - V a l - I l e - L y s - A s p - P h e (
配列番号：1) の合成

樹脂はFmoc-Phe-Alko Resin (0.56mmol/g, 100-200mesh)を用いた。この樹脂100mgを用いて、後記スケジュール1に従って合成を開始し、Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc

-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OHを順次カップリングさせた。カップリングの後、以下の表4に示したスケジュール1の工程3まで行い、その結果、ペプチド樹脂が得られた。

【0052】

このペプチド樹脂にReagent K (5%フェノール、5%チオアニソール、5%H₂O、2.5%エタンジチオール/TFA溶液) 2mlを加え、室温で2.5時間反応させた。冰冷下反応液にジエチルエーテル10mlを加え10分攪拌し、濾過しジエチルエーテル10mlで洗浄した。濾上物に酢酸水10mlを加えて30分間攪拌後、樹脂を濾別し、酢酸水4mlで洗浄した。濾液を凍結乾燥後、得られた粗ペプチドを酢酸水に溶解し、予め0.1%TFA水で平衡化させた逆相系充填剤COSMOSIL 5C18-ARカラム(25φ×250mm)に注入し、カラムを0.1%TFA水で洗浄後、アセトニトリル濃度を260分で25%まで増加させ、流速7ml/min.で溶出した。溶出液をA220nmでモニターし、目的物を含む画分を集め、凍結乾燥し、Lys-Phe-His-Arg-Val-Ile-Lys-Asp-Phe 11.7mgを得た。

得られたLys-Phe-His-Arg-Val-Ile-Lys-Asp-Pheは、逆相系充填剤YMC-PACK ODS-AMカラム(4.6φ×250mm)を用いた、0%から60%までの0.1%TFAを含むアセトニトリルの直線濃度勾配溶出法による分析において保持時間23.9分を示し、そのアミノ酸分析値および質量分析値は理論値と一致した。

【0053】

アミノ酸分析

加水分解: 1%フェノール/6N塩酸水溶液、110℃、24時間

分析法: ニンヒドリン法

*基準アミノ酸 () 内理論値

Asx: 1.01 (1)

* V a l : 1. 00 (1)
 I l e : 0. 85 (1)
 P h e : 1. 94 (2)
 L y s : 1. 74 (2)
 H i s : 0. 95 (1)
 A r g : 0. 86 (1)

質量分析 (F A B)

[M+H]⁺ : 1190

【0054】

【表4】

スケジュール1

工程	時間 (分) × 处理回数
1. (洗浄) DMF 1. 2 ml	1 × 2
2. (脱保護) 50% ピペリジン／DMF	1 2 × 1
3. (洗浄) DMF 1. 2 ml	1 × 7
4. (カップリング) 各アミノ基保護アミノ酸 (5当量) ／NMP溶液 0. 9 ml、D I C (5当量) ／NMP 溶液 0. 3 ml	3 0 × 1
5. (洗浄) DMF 1. 2 ml	1 × 2
6. (カップリング) 各アミノ基保護アミノ酸 (5当量) ／NMP溶液 0. 9 ml、D I C (5当量) ／NMP 溶液 0. 3 ml	3 0 × 1
7. (洗浄) DMF 1. 2 ml	1 × 4

【0055】

実施例6

A s p - P h e - M e t - I l e - G l n - G l y - G l y - A s p - P h e (配列番号: 2) の合成

実施例5と同様にして、F m o c - P h e - A l k o R e s i n 1 0 0 m g を用いて、F m o c - A s p (O t B u) - O H, F m o c - G l y - O H,

Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Gln-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OHを順次カップリングさせ、その後脱保護を行った。得られた粗ペプチドを酢酸水に溶解し、予め0.1%TFA水で平衡化させた逆相系充填剤COSMOSIL 5C18-ARカラム(25φ×250mm)に注入し、カラムを0.1%TFA水で洗浄後、アセトニトリル濃度を260分で31%まで増加させ、流速7ml/min.で溶出した。溶出液を220nmでモニターし、目的物を含む画分を集め、凍結乾燥し、Asp-Phe-Met-Ile-Gln-Gly-Gly-Asp-Phe 3.6mgを得た。

【0056】

得られたAsp-Phe-Met-Ile-Gln-Gly-Gly-Asp-Pheは、逆相系充填剤YMC-PACK ODS-AMカラム(4.6φ×250mm)を用いた、0%から60%までの0.1%TFAを含むアセトニトリルの直線濃度勾配溶出法による分析において保持時間25.8分を示し、そのアミノ酸分析値(ただし、Metは検出せず)および質量分析値は理論値と一致した。

【0057】

アミノ酸分析

加水分解: 1%フェノール/6N塩酸水溶液、110℃、24時間

分析法: ニンヒドリン法

*基準アミノ酸 () 内理論値

Asx: 2.02 (2)

Glx: 1.04 (1)

Gly: 2.04 (2)

*Ile: 1.00 (1)

Phe: 1.97 (2)

質量分析(FAB)

[M+H]⁺: 1029

【0058】

実施例 7

腫瘍抗原ペプチドの同定

先の実施例 5 および 6 で合成した2種のペプチドについて、実施例 4 と同様の実験をペプチド濃度を0.001~1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲で行った結果、これらのペプチドが腫瘍抗原ペプチドとして機能していることが明らかになった。その結果を図1 及び図2 に示す。図中横軸はペプチド濃度(pg/ml)を、縦軸はKG-CTLが產生したIFN- γ 量(pg/ml)を示す。「84-92」及び「91-99」を、HLA-A2402 cDNAの組換えプラスミドをトランスフェクトしたCOS-7細胞にパルスした場合に、濃度依存的にKG-CTLの反応性が増加した。また、HLA-A2601 cDNAの組換えプラスミドをトランスフェクトしたCOS-7細胞にパルスした場合よりも、前記HLA-A2402 cDNAの組換えプラスミドをトランスフェクトした場合のほうが、KG-CTLは高い反応性を示した。以上の結果より、「84-92」及び「91-99」の2つのペプチドは、HLA-A24拘束性の腫瘍抗原ペプチドとして機能していることが示された。

【0059】

実施例 8

L y s - T y r - H i s - A r g - V a l - I l e - L y s - A s p - P h e (配列番号：39) の合成

実施例 7 により、「84-92」及び「91-99」が腫瘍抗原ペプチドとして機能していることが明らかとなったため、HLA-A24の結合モチーフ上置換可能なアミノ酸の範囲内から、第2位のフェニルアラニンをチロシンに置換した誘導体、「84-92-2F-Y」(配列番号：39) および、「91-99-2F-Y」(配列番号：40) を、それぞれ合成した。

【0060】

L y s - T y r - H i s - A r g - V a l - I l e - L y s - A s p - P h e (配列番号：39) については、実施例 5 と同様にして、Fmoc-Phe-Alko Resin 100 mg を用いて、Fmoc-Asp(ObBu)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-O

Hを順次カップリングさせ、その後脱保護を行った。得られた粗ペプチドを酢酸水に溶解し、予め0.1%TFA水で平衡化させた逆相系充填剤COSMOSIL 5C18-ARカラム(25φ×250mm)に注入し、カラムを0.1%TFA水で洗浄後、アセトニトリル濃度を200分で25%まで増加させ、流速7ml/min.で溶出した。溶出液を220nmでモニターし、目的物を含む画分を集め、凍結乾燥し、Lys-Tyr-His-Arg-Val-Ile-Lys-Asp-Phe 44.9mgを得た。

【0061】

得られたLys-Tyr-His-Arg-Val-Ile-Lys-Asp-Pheは、逆相系充填剤YMC-PACK ODS-AMカラム(4.6φ×250mm)を用いた、0%から60%までの0.1%TFAを含むアセトニトリルの直線濃度勾配溶出法による分析において保持時間1.7.7分を示し、そのアミノ酸分析値および質量分析値は理論値と一致した。

【0062】

アミノ酸分析

加水分解：1%フェノール/6N塩酸水溶液、110℃、24時間

分析法：ニンヒドリン法

*基準アミノ酸 () 内理論値

Asx: 1.06 (1)

*Val: 1.00 (1)

Ile: 0.85 (1)

Tyr: 0.89 (1)

Phe: 0.95 (1)

Lys: 1.85 (2)

His: 0.98 (1)

Arg: 0.91 (1)

質量分析(FAB)

[M+H]⁺: 1206

【0063】

実施例9

A s p - T y r - M e t - I l e - G l n - G l y - G l y - A s p - P h e (配列番号: 40) の合成

実施例5と同様にして、Fmoc-Phe-Alko Resin 100mgを用いて、Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Gln-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OHを順次カップリングさせ、その後脱保護を行った。得られた粗ペプチドを酢酸水に溶解し、予め0.1%TFA水で平衡化させた逆相系充填剤COSMOSIL 5C18-ARカラム(25φ×250mm)に注入し、カラムを0.1%TFA水で洗浄後、アセトニトリル濃度を200分で27%まで増加させ、流速7ml/min.で溶出した。溶出液を220nmでモニターし、目的物を含む画分を集め、凍結乾燥し、Asp-Tyr-Met-Ile-Gln-Gly-Gly-Asp-Phe 12.8mgを得た。

【0064】

得られたAsp-Tyr-Met-Ile-Gln-Gly-Gly-Asp-Pheは、逆相系充填剤YMC-PACK ODS-AMカラム(4.6φ×250mm)を用いた、0%から60%までの0.1%TFAを含むアセトニトリルの直線濃度勾配溶出法による分析において保持時間24.7分を示し、そのアミノ酸分析値(ただし、Metは検出せず)および質量分析値は理論値と一致した。

【0065】

アミノ酸分析

加水分解: 1%フェノール/6N塩酸水溶液、110℃、24時間

分析法: ニンヒドリン法

*基準アミノ酸 () 内理論値

Asx: 2.04 (2)

Glx: 1.02 (1)

Gly: 2.06 (2)

* Ile : 1. 00 (1)

Tyr : 0. 82 (1)

Phe : 0. 98 (2)

質量分析 (FAB)

[M+H]⁺ : 1045

【0066】

実施例10

腫瘍抗原ペプチド及びその誘導体による末梢血リンパ球からのCTL誘導

実施例5で合成した「84-92」(配列番号: 1) 及び実施例8で合成した「84-92-2F-Y」(配列番号: 39) のペプチドを用いて、末梢血リンパ球から抗原特異的なCTLが誘導できるか検討した。

HLA-A24カスがA24のヘテロである白血病患者の末梢血からフィコール法によりリンパ球を分離した。24穴プレートに 2×10^6 細胞/穴となるようにリンパ球を加え、リンパ球培養液で培養した。培養液に前記腫瘍抗原ペプチドを10 μ Mになるように加え、末梢血リンパ球を刺激した。1週間後、X線照射(50Gy)した約 2×10^5 個の末梢血リンパ球とともに前記腫瘍抗原ペプチドを10 μ Mになるように加えて、2回目の刺激を行った。さらに1週間後、3回目の刺激を同様に繰り返した。3回目の刺激から1週間後、培養したリンパ球を回収した。腫瘍抗原タンパク質を発現しておりHLA-A2402陽性のEBウイルスでトランスフォームしたB細胞株であるBEC-2、及び腫瘍抗原タンパク質を発現しているがHLA-A2402陰性のEBウイルスでトランスフォームしたB細胞株であるBan-B1をそれぞれ標的細胞(1×10^4 個)として、前記のリンパ球(8×10^4 個)が反応して産生する培養上清中のIFN- γ 量をELISAで測定した。結果を表5に示す。

【0067】

【表5】

抗原ペプチド	上清中のIFN- γ (pg/ml)	
	BEC-2	Ban-B1
「84-92」	383	38

「84-92・2F-Y」	489	63
なし	245	74

【0068】

「84-92」及び「84-92・2F-Y」のペプチドで刺激した末梢血リンパ球は、HLA-A24陽性のBEC-2に反応したが、HLA-A24陰性のBan-B1には反応しなかったことから、HLA-A24拘束性の抗原ペプチド特異的なCTLが誘導されていることが示された。また、「84-92・2F-Y」のペプチドで刺激した末梢血リンパ球は、「84-92」のペプチドで刺激した末梢血リンパ球よりも強くBEC-2に反応したことから、ペプチドを置換した誘導体は、オリジナルのペプチドと同等以上のCTL誘導能を有することが示された。

【0069】

【発明の効果】

本発明によりサイクロフィリンB由来の腫瘍抗原ペプチドおよび機能的に同等の特性を有するその誘導体、あるいはこれらの腫瘍抗原ペプチドおよびその誘導体をin vivoまたはin vitroで利用した腫瘍の治療または予防剤などを提供することができる。

【0070】

【配列表】

配列番号：1

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Lys Phe His Arg Val Ile Lys Asp Phe

1

5

【0071】

配列番号：2

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Asp Phe Met Ile Gln Gly Gly Asp Phe

1 5

【0072】

配列番号：3

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Gly Phe Gly Tyr Lys Asn Ser Lys Phe

1 5

【0073】

配列番号：4

配列の長さ：11

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Gly Tyr Lys Asn Ser Lys Phe His Arg Val Ile

1 5 10

【0074】

配列番号：5

配列の長さ：11

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Asn Phe Lys Leu Lys His Tyr Gly Pro Gly Trp

1

5

10

【0075】

配列番号：6

配列の長さ：11

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Ile Tyr Gly Glu Arg Phe Pro Asp Glu Asn Phe

1

5

10

【0076】

配列番号：7

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Arg Phe Pro Asp Glu Asn Phe Lys Leu

1

5

【0077】

配列番号：8

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

His Tyr Gly Pro Gly Trp Val Ser Met

1

5

【0078】

配列番号：9

配列の長さ：10

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Phe Phe Ile Thr Thr Val Lys Thr Ala Trp

1

5

10

【0079】

配列番号：10

配列の長さ：10

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Ala Trp Leu Asp Gly Lys His Val Val Phe

1

5

10

【0080】

配列番号：11

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Val Phe Gly Lys Val Leu Glu Gly Met

1

5

【0081】

配列番号：12

配列の長さ：8

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Lys Val Leu Leu Ala Ala Ala Leu

1

5

【0082】

配列番号：13

配列の長さ：11

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Leu Leu Ala Ala Ala Leu Ile Ala Gly Ser Val

1

5

10

【0083】

配列番号：14

配列の長さ：10

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Ala Leu Ile Ala Gly Ser Val Phe Phe Leu

1

5

10

【0084】

配列番号：15

配列の長さ：11

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Ala Leu Ile Ala Gly Ser Val Phe Phe Leu Leu

1

5

10

【0085】

配列番号：16

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Leu Ile Ala Gly Ser Val Phe Phe Leu

1

5

【0086】

配列番号：17

配列の長さ：10

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Leu Ile Ala Gly Ser Val Phe Phe Leu Leu

1

5

10

【0087】

配列番号：18

配列の長さ：11

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Leu Ile Ala Gly Ser Val Phe Phe Leu Leu Leu

1

5

10

【0088】

配列番号：19

配列の長さ：10

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Lys Val Thr Val Lys Val Tyr Phe Asp Leu

1

5

10

【0089】

配列番号：20

配列の長さ：8

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Thr Val Lys Val Tyr Phe Asp Leu

1

5

【0090】

配列番号：21

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Asp Leu Arg Ile Gly Asp Glu Asp Val

1

5

【0091】

配列番号：22

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Asp Val Gly Arg Val Ile Phe Gly Leu

1

5

【0092】

配列番号：23

配列の長さ：11

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Arg Val Ile Phe Gly Leu Phe Gly Lys Thr Val

1

5

10

【0093】

配列番号：24

配列の長さ：11

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Gly Leu Phe Gly Lys Thr Val Pro Lys Thr Val

1 5 10

【0094】

配列番号：25

配列の長さ：10

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Thr Val Pro Lys Thr Val Asp Asn Phe Val

1 5 10

【0095】

配列番号：26

配列の長さ：8

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Thr Val Asp Asn Phe Val Ala Leu

1 5

【0096】

配列番号：27

配列の長さ：10

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Lys Leu Lys His Tyr Gly Pro Gly Trp Val

1 5 10

【0097】

配列番号：28

配列の長さ：8

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Ser Gln Phe Phe Ile Thr Thr Val

1 5

【0098】

配列番号：29

配列の長さ：10

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Phe Ile Thr Thr Val Lys Thr Ala Trp Leu

1 5 10

【0099】

配列番号：30

配列の長さ：8

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Trp Leu Asp Gly Lys His Val Val

1 5

【0100】

配列番号：31

配列の長さ：8

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

His Val Val Phe Gly Lys Val Leu

1

5

【0101】

配列番号：32

配列の長さ：8

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Lys Val Leu Glu Gly Met Glu Val

1

5

【0102】

配列番号：33

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Lys Val Leu Glu Gly Met Glu Val Val

1

5

【0103】

配列番号：34

配列の長さ：8

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Val Leu Glu Gly Met Glu Val Val

1 5

【0104】

配列番号：35

配列の長さ：11

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Val Leu Glu Gly Met Glu Val Val Arg Lys Val

1 5 10

【0105】

配列番号：36

配列の長さ：8

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Gly Met Glu Val Val Arg Lys Val

1 5

【0106】

配列番号：37

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列の特徴

存在位置：2

他の情報：Xaa=Phe,Tyr,MetまたはTrp

存在位置：9

他の情報：Xaa=Phe,Leu,Ile,TrpまたはMet

配列

Lys Xaa His Arg Val Ile Lys Asp Xaa

1 5

【0107】

配列番号：38

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列の特徴

存在位置：2

他の情報：Xaa=Phe,Tyr,MetまたはTrp

存在位置：9

他の情報：Xaa=Phe,Leu,Ile,TrpまたはMet

配列

Asp Xaa Met Ile Gln Gly Gly Asp Xaa

1 5

【0108】

配列番号：39

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Lys Tyr His Arg Val Ile Lys Asp Phe

1

5

【0109】

配列番号：40

配列の長さ：9

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Asp Tyr Met Ile Gln Gly Gly Asp Phe

1

5

【図面の簡単な説明】

【図1】

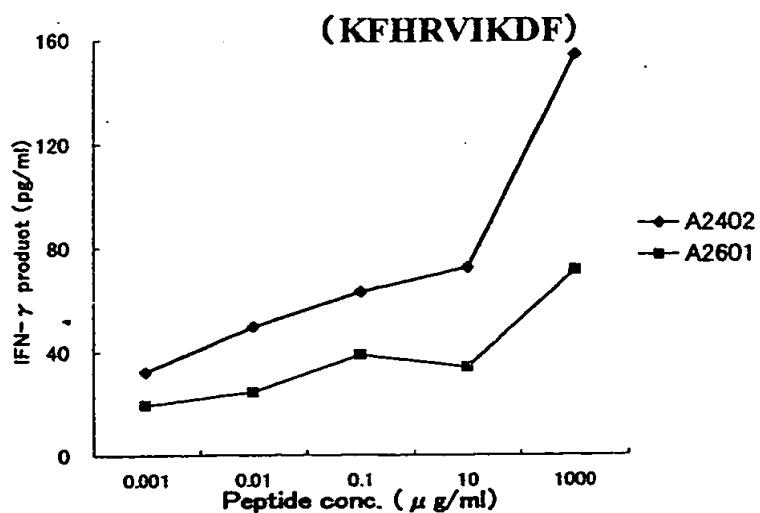
図1は、HLA-A2402 cDNAの組換えプラスミドあるいはHLA-A2601 cDNAの組換えプラスミドを導入したCOS-7細胞に対して本発明の腫瘍抗原ペプチド「84-92（配列番号：1）」を添加した後、KG-CTLと共に培養し、KG-CTLが産生したIFN- γ 量を測定した結果を示すグラフである。横軸は添加したペプチド濃度を、縦軸はKG-CTLが産生したIFN- γ 量を示す。

【図2】

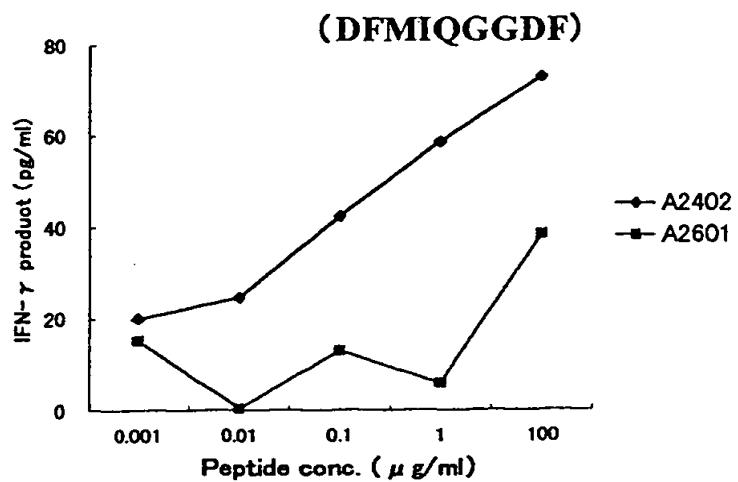
図2は、HLA-A2402 cDNAの組換えプラスミドあるいはHLA-A2601 cDNAの組換えプラスミドを導入したCOS-7細胞に対して本発明の腫瘍抗原ペプチド「91-99（配列番号：2）」を添加した後、KG-CTLと共に培養し、KG-CTLが産生したIFN- γ 量を測定した結果を示すグラフである。横軸は添加したペプチド濃度を、縦軸はKG-CTLが産生したIFN- γ 量を示す。

【書類名】 図面

【図 1】



【図 2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 新規な腫瘍抗原ペプチドあるいはその誘導体、あるいはこれらを *in vivo* または *in vitro* で利用した腫瘍の治療または予防剤を提供する。

【解決手段】 サイクロフィリンB由来の腫瘍抗原ペプチド又は機能的に同等の特性を有するその誘導体、これら腫瘍抗原ペプチドまたはその誘導体、またはサイクロフィリンBタンパク質、あるいは該サイクロフィリンBをコードする遺伝子を有効成分とする腫瘍の治療または予防剤、前記サイクロフィリンB由来の腫瘍抗原ペプチド又はその誘導体に対する抗体、前記サイクロフィリンB由来の腫瘍抗原ペプチド又はその誘導体を *in vitro* で利用した腫瘍の治療剤。

【選択図】 なし

【書類名】 職權訂正データ
【訂正書類】 特許願

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成10年 6月25日
【特許出願人】
【識別番号】 596094371
【住所又は居所】 佐賀県三養基郡基山町けやき台2-25-9
【氏名又は名称】 伊東 恭悟
【特許出願人】
【識別番号】 000183370
【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区道修町2丁目2番8号
【氏名又は名称】 住友製薬株式会社
【代理人】
【識別番号】 100107629
【住所又は居所】 大阪府大阪市此花区春日出中三丁目1番98号 住
【氏名又は名称】 友製薬株式会社 法務部内
中村 敏夫

出願人履歴情報

識別番号 [596094371]

1. 変更年月日 1996年 6月 7日

[変更理由] 新規登録

住所 佐賀県三養基郡基山町けやき台2-25-9
氏名 伊東 恭悟

出願人履歴情報

識別番号 [000183370]

1. 変更年月日 1990年 8月 9日

[変更理由] 新規登録

住 所 大阪府大阪市中央区道修町2丁目2番8号

氏 名 住友製薬株式会社

